

# Compte rendu de mission à Cuba

P.-Y. Teycheney

17-27 juin 2007



## 1- Présentation générale de la mission

Ma mission s'inscrit dans le cadre d'une collaboration scientifique avec l'INISAV (*Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal*, La Havane) sur la thématique BSV (*Banana streak virus*, virus de la mosaïque en tirets du bananier). Elle a été financée par le fonds de coopération régionale (FCR) de la Région Guadeloupe et organisée avec l'appui du service de coopération régionale du CIRAD Guadeloupe.

Cette mission avait plusieurs objectifs :

- Assurer le transfert de la méthode d'indexation pour le BSV par multiplex immunocapture PCR (M-IC-PCR) mise au point par le CIRAD
- Entamer l'analyse de la prévalence et de la diversité des espèces virales BSV à Cuba
- Consolider les relations de coopération existant entre l'INISAV et le CIRAD en matière de phytopathologie sur bananiers et plantains
- Explorer les possibilités de projets de recherche communs dans ce domaine
- Rencontrer les interlocuteurs institutionnels (MINVEC, Ambassade de France) susceptibles de favoriser le développement de projets communs

### 1.1. Pourquoi développer des collaborations scientifiques sur bananier et plantain avec Cuba ?

Cuba est actuellement le pays au monde dans lequel sont présentes les surfaces les plus importantes cultivées en hybrides interspécifiques de plantains et de bananiers issus de croisements *Musa acuminata* x *M. balbisiana*. Ces hybrides ont été développés et sélectionnés par le programme de création variétale de la Fondation Hondurienne de Recherche Agricole (FHIA) principalement pour la résistance à la maladie des raies noires (MRN), qui est causée par le champignon *Mycosphaerella fijiensis*. L'impact de l'utilisation à grande échelle de ces hybrides sur (i) la structure des populations de *M. fijiensis* et la durabilité de leur résistance au champignon ainsi que sur (ii) les risques de diffusion du BSV par activation des séquences EPRV BSV pathogènes intégrées au génome de *Musa balbisiana* n'a pas été évaluée. Ces informations sont pourtant essentielles à la gestion durable des hybrides interspécifiques de type AAB ou AAAB, tant en terme de résistance à *M. fijiensis* que de risque de diffusion du BSV. Elles revêtent donc un intérêt stratégique pour les programmes de création variétale et de diffusion de bananiers et/ou de plantains, tel celui développé par le CIRAD aux Antilles françaises. Notre collaboration avec l'INISAV a pour objectif de permettre d'acquérir ces données. Malgré les contraintes importantes existant à Cuba, tant politiques que matérielles, il est donc stratégiquement important pour le CIRAD de maintenir et de renforcer une collaboration scientifique sur ce thème.

### 1.2. Situation phytosanitaire à Cuba vis-à-vis de la MRN et du BSV

Malgré la diffusion à grande échelle d'hybrides interspécifiques résistants à la MRN, l'impact de cette dernière n'est pas nul à Cuba, notamment sur l'hybride FHIA 18. L'impact grandissant de la MRN témoigne visiblement d'un effritement des résistances à *M. fijiensis* dans ces hybrides. Compte tenu des contraintes financières pesant sur le pays, le contrôle de la MRN y est effectué principalement par effeuillage manuel car le coût dérisoire de la main d'œuvre rend cette méthode moins onéreuse que l'épandage de fongicides.

Les plants proviennent soit d'unités de production de vitroplants (*biofabricas*), dont est dotée chacune des provinces cubaines, soit de rejets. Quelle que soit la méthode de multiplication, il est rare que le matériel de départ fasse l'objet d'indexations (virologiques ou autres). De plus, malgré le risque avéré d'activation d'EPRV BSV par microprogagation, plusieurs millions de vitroplants d'hybrides interspécifiques AAB ou AAAB sont produits et diffusés annuellement à Cuba. Il est probable que cette diffusion favorise celle du BSV, comme en témoigne l'impact important du virus dans une des plantations visitées au cours de cette mission (voir 2.2.5).

Pour la présentation institutionnelle de l'INISAV, voir les rapports de mission précédents et/ou se reporter au site <http://www.inisav.cu/>

## 2 – Echantillonnages de masse et préparation des indexations

### 2.1. Présentation de la campagne

Une campagne d'échantillonnage a été effectuée, à des fins d'analyse du niveau de prévalence et de diversité moléculaire des populations de BSV à Cuba. Des échantillons foliaires ont été récoltés dans des exploitations situées dans les provinces de La Havane et Pinar del Rio, sur des variétés hybrides créées (FHIA 03, 18, 20, 21 et 25 ; Burro Cemsá) ou naturelles (Yangambi km5, Pelipita). Ces prospections m'ont permis de visiter plusieurs exploitations (fermes d'état) et de m'entretenir avec leurs responsables. Globalement, l'état sanitaire des exploitations visitées est satisfaisant. Il est frappant de noter que peu de plantes issues de rejets montrent des symptômes de BSV alors que l'unique parcelle d'hybrides FHIA 21 issus de vitroplants qu'il m'a été possible de visiter montre en revanche un niveau élevé de plantes symptomatiques (voir 2.2.5). Le phytopathologiste attaché à cette exploitation de la province de La Havane fait état dans celle-ci de 60% de plants de FHIA 21 présentant des symptômes de BSV, dont 10 à 15% de symptômes graves d'éclatement du pseudo tronc. De fait, de nombreuses plantes symptomatiques ont été observées sur cette parcelle, même si leur proportion n'atteint pas les chiffres cités par cette personne.

### 2.2. Exploitations visitées

#### 2.2.1. Coopérative UBPC « Manuel Isla »

- Localisation : Province de La Havane, municipalité de Melena del Sur
- Cultures pratiquées : plantain, papaye, tomates , poivrons
- Variétés / hybrides de bananier et plantains cultivés : FHIA 21, 25 et 18 ; Burro cemsá ; Macho ¾ (sensible aux nématodes)
- Type de matériel végétal de plantation: uniquement des rejets
- Pratiques culturales : irrigation par aspersion, avec buses en milieu de rangée ; matériel organique recyclé sur les parcelles comme engrais

#### 2.2.2. Finca Valverde

- Localisation : Province de La Havane, municipalité de Quimiquan
- Cultures pratiquées : bananier, plantain
- Variétés / hybrides de bananier et plantains cultivés : FHIA 20, 21 et 25
- Type de matériel végétal de plantation: uniquement des rejets
- Pratiques culturales : pas d'irrigation ; densité de plantation élevée (mais pas connue)



Figure 1 : Symptômes observés sur feuilles (A) et pseudo tronc (B, C, D) d'hybrides FHIA 21.

### 2.2.3. Finca UBPC La Miriam

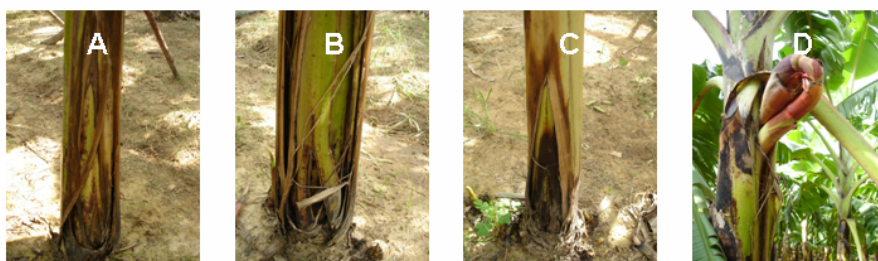
- Localisation : province de Pinar del Rio, municipalité de La Palma
- Cultures pratiquées : bananier, plantain
- Variétés / hybrides de bananier et plantains cultivés : FHIA 18, 21 et 25 ; Burro censa
- Type de matériel végétal de plantation: uniquement des rejets
- Pratiques culturales : pas d'irrigation



**Figure 2 : Symptômes observés sur le pseudo tronc d'un hybride FHIA 21**

### 2.2.4. Empresa Cubaquiver

- Localisation : province de Pinar del Rio, municipalité de Los Palacios
- Cultures pratiquées : bananier, plantain
- Variétés / hybrides de bananier et plantains cultivés : FHIA 03, 18 et 21; Burro censa
- Type de matériel végétal de plantation: uniquement des rejets
- Présence de symptômes d'éclatement du pseudo tronc et d'émergence anormale de l'inflorescence sur FHIA 21



**Figure 3 : Symptômes observés sur pseudo tronc (A, B, C) et fleur mâle d'hybrides FHIA 21**



### 2.2.5. UBPC Santa Helena

- Localisation : Province de La Havana, municipalité de Nueva Paz
- Cultures pratiquées : bananier, plantain
- Variétés / hybrides de bananier et plantains cultivés : FHIA 18, 21, 25 ; Yangambi km5, Pelipita
- Type de matériel végétal de plantation: vitroplants issus de la biofabrica de Güines (province de Ciego de Avila)
- FHIA18 présente peu de symptômes de BSV (10-15%), principalement des éclatement pseudo troncs sur des plants âgés de 1 à 18 mois ; FHIA21 présente jusqu'à 60% de plants symptomatiques, dont 15 à 18% avec des symptômes sévères (éclatement du pseudo tronc, émergence anormale de l'inflorescence), le reste exprime seulement des symptômes foliaires ; quelques symptômes sur Pelipita (génotype ABB)
- FHIA21 semble être très sensible aux araignée rouges (principalement en hiver) et à la cercosporiose jaune



**Figure 4 : Symptômes observés sur feuille (A), pseudo tronc (B), système vasculaire (C) et fleur mâle (D, E) d'hybrides FHIA 21.**

Par ailleurs, des échantillons foliaires supplémentaires ont été expédiés par des instituts de recherche situés dans les provinces de Granma et de Pinar del Rio (voir tableau).

### 2.3. Préparation des échantillons foliaires pour indexations virologiques

Après photographie des symptômes lorsqu'il y en a, les échantillons foliaires récoltés ainsi que ceux envoyés des provinces Granma et Ciego de Avila, soit un total de 523 échantillons (voir tableau 1), ont été broyés et l'étape d'immunocapture réalisée sur des microplaques préalablement coâtées, selon le protocole optimisé au CIRAD (Le Provost et al., 2006, *J. Virol. Meth.* **137** : 7-13). Après lavages, ces plaques ont été stockées à -20°C, dans l'attente de l'étape de multiplex PCR qui sera réalisée ultérieurement (courant novembre 2007) au CIRAD Guadeloupe par un des chercheurs de l'équipe de virologie de l'INISAV. Chaque échantillon sera séparément indexé pour la présence des 4 principales espèces virales BSV par M-IC-PCR. De plus, chaque échantillon sera également indexé à la fois par IC-PCR et par DB-PCR à l'aide d'amorces dégénérées afin de rechercher d'éventuelles nouvelles espèces virales BSV.

Par ailleurs, ces échantillons feront également l'objet d'une indexation pour la présence du virus X du bananier (BVX). A cette fin, une étape de direct binding a été effectuée directement sur microplaque selon la méthode de détection mise au point au CIRAD (Teycheney et al., 2007, *J. Virol. Meth.* **142** : 41-49). Les étapes ultérieures de reverse transcription nested PCR seront également réalisées ultérieurement au CIRAD Guadeloupe. Au total, chaque échantillon devant faire l'objet de 7 réactions distinctes (M-IC-PCR, M-DB-PCR ou DB-RT-PCR), un total de  $523 \times 7 = 3661$  réactions d'immunocapture ou de direct binding ont été réalisées.

Tableau 1 : Liste des échantillons préparés pour indexation

	La Havana			Pinar del Rio		Granma	Ciego de Avila
	Melena del Sur	Quiricàn	Nueva Paz	La Palma	Cubaquivir		
FHIA 03					4		
FHIA 18	12			32			
FHIA 20		6					
FHIA 21	22	25	17	20	20	50	
FHIA 23						8	
FHIA 25	17	7		10		9	
Burro cems	19						
Yangambi km5						20	
Pelipita			8				
Grande naine							217
<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>38</b>	<b>25</b>	<b>62</b>	<b>24</b>	<b>87</b>	<b>217</b>

### 3 – Elaboration d'un projet de recherche en collaboration avec l'INISAV

Un projet de recherche commun a été soumis au MAE dans le cadre du programme FSP prioritaire franco-cubain et accepté pour financement en janvier 2003. Il avait pour objectif d'évaluer l'impact sur la dynamique et l'évolution de *M. fijiensis* et du BSV de l'utilisation à grande échelle de nouvelles variétés hybrides de bananier et plantain. La crise diplomatique survenue en 2003 entre l'Union Européenne et la République de Cuba a conduit à l'abandon de la majeure partie des projets financés par ce FSP, dont celui-ci. Ce projet demeure toutefois stratégique pour les Antilles Françaises, et particulièrement pour la région Guadeloupe, ainsi que pour nos partenaires de la région Caraïbes, l'IDIAF (République Dominicaine) et l'INISAV (Cuba). Un des objectifs de ma mission était donc d'étudier les possibilités de collaboration régionale avec l'INISAV. Pour cela, j'ai rencontré des interlocuteurs à l'Ambassade de France et au MINVEC (*Ministerio para la inversion extrajera y la colaboracion economica*).

- **Roland Navaro**, attaché scientifique chargé de la coopération à l'Ambassade de France à La Havane, estime qu'un projet scientifique visant à évaluer l'impact de la diffusion à grande échelle d'hybrides interspécifiques de bananiers et de plantains sur la dynamique des populations de *M. fijiensis* et de BSV représente un enjeu scientifique et économique majeur pour la zone Caraïbe. Un tel projet répond aux préoccupations environnementales (via la création et la diffusion d'hybrides résistants aux maladies), sociaux et économiques (via le renforcement de la filière banane) de la Région Guadeloupe. Ce projet permettrait également d'accroître le potentiel scientifique et le rayonnement régional de la Guadeloupe. Mr Navaro estime donc que ce projet devrait être présenté pour financement au Conseil Régional Guadeloupe dans le cadre du Fonds de Coopération Régional (FCR), préférablement sous la forme d'un projet tripartite impliquant le CIRAD Guadeloupe, l'IDIAF et l'INISAV. En effet, la République Dominicaine et Cuba font partie de la zone de sécurité prioritaire définie par le MAE. Mr Navaro se propose de soutenir au besoin

ce projet, qui sera rédigé dans le courant de l'été pour une soumission prévue début septembre 2007.

- **Mme Perojo Bellido de Luna**, responsable de la coopération avec l'Europe au MINVEC, estime pour sa part également qu'un projet scientifique en collaboration impliquant le CIRAD Guadeloupe et l'INISAV sur la thématique ciblée est très pertinent. Il entre dans le cadre des accords conclus entre le Ministère de l'Agriculture cubain et le Conseil Régional de Guadeloupe pour l'établissement d'une programmation annuelle de collaboration scientifique et dans les priorités thématiques définies par le Minvec. De plus, ce projet est d'intérêt commun pour la Guadeloupe, Cuba et l'ensemble de la zone Caraïbe. Mme Perojo Bellido de Luna le soutiendra.

## **Annexe : programme de la mission**

### **Dimanche 17 juin**

- Voyage Paris – La Havane

### **Lundi 18 juin**

- Prospection à Melena del Sur

### **Mardi 19 juin**

- Prospection à Quivicán
- Préparation des échantillons récoltés

### **Mercredi 20 juin**

- Prospection à La Palma et Los Palacios
- Préparation des échantillons récoltés

### **Jeudi 21 juin**

- Prospection à Nueva Paz
- Préparation des échantillons récoltés

### **Vendredi 22 juin**

- Préparation des échantillons envoyés des provinces Granma et Ciego de Avila

### **Lundi 25 juin**

- Immunocaptures pour l'ensemble des 523 échantillons analysés
- Lavage des microplaques et stockage à -20°C

### **Mardi 26 juin**

- Transfert de la technique de M-IC-PCR sur un nombre limité d'échantillons symptomatiques
- Analyse des produits d'amplification par électrophorèse

### **Mercredi 27 juin**

- Entretien avec R. Navaro à l'Ambassade de France
- Entretien avec Mme Perojo Bellido de Luna au MINVEC
- Voyage La Havane - Paris